

Isolasi dan Pengklonan Gen Penyandi H⁺-ATPase Membran Plasma dari *Melastoma malabathricum* L.

Isolation and Cloning of the Gene Encoding for Plasma Membrane H⁺-ATPase from *Melastoma malabathricum* L.

Muzuni^{1*}, Didy Sopandie², Utut Widyastuti Suharsono³, dan Suharsono³

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Haluoleo (University of Haluoleo), Kampus Bumi Tridharma Anduonohu, Kendari 16232, Indonesia

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia.

³Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 19 November 2012/Disetujui 3 Mei 2013

ABSTRACT

Melastoma malabathricum L. is an Al-accumulating plant that grows well in acidic soils with high level of soluble aluminium in the tropics. One of the important proteins in the detoxifying Al stress is a plasma membrane H⁺-ATPase, a most abundant protein on the plasma membrane, encoded by pma gene. The objective of this research is to isolate and characterize the gene encoding plasma membrane H⁺-ATPase from *M. malabathricum* L. Full length cDNA of Mmpma had been successfully isolated through a gradual isolation of the gene. The 5' end and middle gene of Mmpma had been successfully isolated by PCR (polymerase chain reaction) by using total cDNA as template and pma primers designed from some plants, while the 3' end of Mmpma had been isolated by 3' RACE. The parts of the gene had been successfully joined by PCR. The joining product was successfully inserted into pGEM-T Easy and the recombinant plasmid was successfully introduced into *E. coli* DH5α. Nucleotide sequence analysis showed that the length of Mmpma coding sequence was 2871 bp encoding 956 amino acids with molecular weight of 105.29 kDa and a predicted pI value of 6.84. Local alignment analysis based on nucleotide of mRNA showed that Mmpma is 82% identical to pma *Vitis vinifera*; 81% to pma *Juglans regia*, pma *Populus trichocarpa*, pma *Sesbania rostrata*, and pma *Prunus persica* and 80% to pma *Lycopersicon esculentum*. Based on deduced amino acid sequence, MmPMA is 94% identical to PMA *Vitis vinifera* and PMA *Juglans regia*; 93% to PMA *Populus trichocarpa*; 92% to PMA *Vicia faba*, *Lycopersicon esculentum*, and *Arabidopsis thaliana*, AHA4. MmPMA has 10 transmembran domains, 4 cytoplasm loops, 6 functional domains and 3 autoregulatory domains.

Keywords: aluminium, cDNA, Mmpma, PCR, RACE

ABSTRAK

Melastoma malabathricum L. adalah suatu tanaman hiperakumulator Al yang tumbuh pada tanah asam dengan tingkat kelarutan aluminium tinggi pada daerah tropis. Salah satu enzim penting dalam detoksifikasi Al adalah H⁺-ATPase membran plasma, suatu protein yang paling melimpah pada membran plasma, yang disandikan oleh gen pma. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengklon gen yang menyandikan H⁺-ATPase membran plasma dari *Melastoma malabathricum* L. cDNA total telah berhasil disintesis dengan menggunakan transkripsi balik dengan RNA total sebagai cetakan. cDNA Mmpma utuh telah berhasil diisolasi melalui isolasi gen secara bertahap. Bagian ujung 5' dan tengah gen Mmpma telah diisolasi dengan PCR (polymerase chain reaction) menggunakan cDNA total sebagai cetakan dan primer pma yang didesain dari beberapa tanaman, sedangkan bagian ujung 3' gen Mmpma telah diisolasi dengan 3' RACE. Bagian-bagian gen tersebut telah berhasil digabung menggunakan PCR dan telah disisipkan ke dalam pGEM-T Easy. Plasmid rekombinan tersebut telah berhasil diintroduksi ke dalam *E. coli* DH5α. Analisis sekuen nukleotida menunjukkan bahwa panjang sekuen penyandi (CDS) Mmpma adalah 2871 pb yang menyandikan 956 asam amino dengan berat molekul 105.29 kDa dan prediksi nilai pI sekitar 6.84. Analisis kesejajaran lokal berdasarkan nukleotida mRNA menunjukkan bahwa Mmpma mempunyai kemiripan 82% dengan pma *Vitis vinifera*; 81% dengan pma *Juglans regia*, pma *Populus trichocarpa*, pma *Sesbania rostrata*, dan pma *Prunus persica* dan 80% dengan pma *Lycopersicon esculentum*. Berdasarkan deduksi urutan asam amino, MmPMA mempunyai kemiripan 94% dengan PMA *Vitis vinifera* dan PMA *Juglans regia*; 93% dengan PMA *Populus trichocarpa*; 92% dengan PMA *Vicia faba*, *Lycopersicon esculentum*, dan *Arabidopsis thaliana*, AHA4. MmPMA mempunyai 10 domain transmembran, 4 loop sitoplasma, 6 domain fungsional dan 3 domain autoregulator.

Kata kunci: aluminium, cDNA, Mmpma, PCR, RACE

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: muzuni71@yahoo.co.id